

Permeación en piel de ácido gálico desde un cosmeto-textil: tejidos de algodón y poliamida*

Meritxell Martí¹, Cristina Alonso¹, Vanessa Martínez¹, Manel Lis², Alfons de la Maza¹, José L. Parra¹, Luisa Coderch¹.

¹Institut de Química Avançada de Catalunya, (IQAC-CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Spain

²Escola d'Enginyeria de Terrassa (EET-UPC), Colom 1, 08222 Terrassa, Spain

Resumen

El antioxidante, ácido gálico (GA), se ha aplicado en algodón (CO) y poliamida (PA) con la ayuda dos vehículos diferentes: liposomas (Lip) y micelas mixtas (MM) para el estudio de sus procesos de absorción / desorción. Mediante absorción percutánea *in vitro* de los diferentes cosmeto-textiles (CO y PA con GA vehiculizado con Lip o MM) se ha demostrado la liberación de GA en la piel.

Cuando el GA está embebido en los tejidos biofuncionales, siempre se obtiene un efecto reservorio más marcado para el caso de PA. Se obtuvo una penetración similar en los compartimentos de la piel tales como estrato córneo, epidermis e incluso la dermis para los tejidos tratados con GA en MM o Lip. Sólo cuando el CO se trató con MM, se detectó GA en el líquido receptor. Esta metodología puede ser útil para verificar la penetración en la piel humana de una sustancia encapsulada que se aplica sobre los materiales textiles que pueden ser considerados como sistemas de administración estratégicos para liberar en la piel un principio activo en dosis específicas.

Key words: cosmeto-textiles, liposomas, micelas mixtas y absorción percutánea.

Summary

An antioxidant, gallic acid (GA), has been applied to cotton (CO) and polyamide (PA) through two different vehicles: liposomes (Lip) and mixed micelles (MM), studying their absorption/desorption processes. *In vitro* percutaneous absorption tests of the different cosmeto-textiles (CO and PAM with GA vehiculized with Lip or MM) were performed to demonstrate GA penetration within the skin layers.

When GA is embedded into the biofunctional textiles, it always promoted a reservoir effect which is much more marked for PA. Similar penetration was obtained for the textiles treated with GA in MM or Lip in the skin compartments such as stratum corneum, epidermis and even the dermis. Only when CO is treated with MM, GA was detected in receptor fluid. This methodology may be useful to verify the penetration in human skin of encapsulated substance applied onto textile materials which can be considered as strategic delivery systems to release a given active principle at specific doses to the skin.

Key words: cosmeto-textiles, liposomes, mixed micelles and percutaneous absorption.

* Conferencia presentada en IFSCC 2012, Johannesburg, Sud Africa

INTRODUCCIÓN

Los cosmeo-textiles son prendas de vestir destinadas a entrar en contacto con la piel con el objetivo de transferir algunas sustancias activas útiles para fines cosméticos, y en particular para combatir los efectos del envejecimiento [1-4]. Debido a que la gente de los países desarrollados vive más tiempo y actúan como jóvenes, ahora hay una gran demanda de productos diseñados para embellecer y retardar el envejecimiento. De hecho, ya existen en el mercado varios productos textiles alegando que tienen algunas de las propiedades que se encuentran generalmente en los cosméticos [3], tales como hidratante, adelgazante, vigorizante, refrescante, relajante, revitalizante, protección UV o simplemente perfume. Existe una verdadera necesidad de desarrollar métodos para demostrar y comprobar la eficacia y la durabilidad de dichas propiedades [5].

La principal barrera de la piel se encuentra dentro del estrato córneo (SC). Una de las posibilidades para aumentar la permeación de la piel a los medicamentos es el uso de sistemas vesiculares o liposomas [6, 7]. Además, en este estudio se ha investigado una nueva estrategia para mejorar la liberación de un principio activo desde el textil a la piel utilizando las micelas mixtas (MM). Las MM están constituidas por un lípido y un agente tensioactivo y son capaces de transformarse en liposomas cuando el tensioactivo se elimina por simple dilución con agua. Por lo tanto, se estudió una nueva aplicación de MM sobre el tejido textil para conocer su potencial capacidad para ser restructuradas como liposomas dentro del propio tejido por dilución (tratamiento de lavado con agua) [8, 9].

Los antioxidantes son sustancias utilizadas como recursos naturales para regular los procesos relacionados con las agresiones externas del cuerpo, impidiendo el estrés oxidativo. En este estudio, se ha utilizado un ácido fenólico, GA, como principio activo por sus propiedades anti-inflamatorias, anti-hongos y anti-virales y su efecto protector antioxidante para nuestras células contra los radicales libres [10]. El interés como trazador químico y su acción beneficiosa eventual apoya su incorporación en un cosmeo-textil, destinado a ser utilizado en contacto con la piel.

El antioxidante GA se ha aplicado en PA y en CO mediante dos vehículos diferentes: Lip y MM, estudiando sus comportamientos de absorción / desorción. Y se ha utilizado un método de absorción percutánea *in vitro* específico para demostrar la penetración del GA en las capas de la piel procedente de los diferentes cosmeo-textiles [11].

EXPERIMENTAL

Materiales. Los tejidos estándar utilizados fueron tejido de hilo de poliamida (PA) (Style 361, ISO 105-F03) y tejido liso de algodón (CO), (blanqueado sin apresto, Style 400 ISO 105-F02). Los Lip se prepararon usando los lípidos comerciales (fosfolípidos) Emulmetik 900 (Lucas Meyer GmbH, Francia) y

las MM utilizando los mismos lípidos y el tensioactivo ORAMIX CG 110 (Seppic Italia Srl, Italia). Se utilizó un principio activo antioxidante GA (Sigma-Aldrich). Todos los productos químicos utilizados fueron de grado analítico. Para el análisis de alto rendimiento en cromatografía líquida con detector de UV (HPLC-UV), también se utilizó metanol, (grado HPLC) y agua destilada. El metanol (Carlo Erba, Francia) se utilizó para las extracciones de GA de los tejidos.

Preparación de vehículos. Se preparó Lip (4% wt de lípidos, 2% wt GA) usando el procedimiento del film detallado previamente [12]. Las MM (30% wt de tensioactivo, 4% wt de lípidos, 2% wt GA) se prepararon mezclando todos los ingredientes; su solubilización se realizó agitando suavemente hasta que se obtuvieron soluciones absolutamente claras. Todas las acciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

Tamaño de vesícula. Para medir el tamaño de los Lip y las MM se usó el Zetasizer Nano ZS90 de Malvern. Cada muestra se analizó por triplicado.

Procedimiento de aplicación en el textil y desorción. Los Lip y las MM con GA se aplicaron sobre tejidos de PA y CO por triplicado mediante agotamiento del baño, con una relación de baño 1/5, a 60°C durante 60 minutos con agitación manual cada 10 minutos. Para cuantificar la cantidad de Lip o MM absorbidos por los tejidos, las muestras se pesaron antes y después, en ambos casos después de 24 horas bajo condiciones normales (23±2°C y humedad relativa 50±5%, ISO 554: 1976).

Las tejidos tratados se lavaron en tres baños de agua destilada diferentes y consecutivos a temperatura ambiente, las muestras se pesaron antes y después, de cada lavado (relación de baño de 1/5, 1/10 y 1/25, respectivamente,) durante 5 min con agitación magnética, las muestras fueron pesadas después de 24 horas bajo condiciones normales (23±2°C y humedad relativa 50±5%, ISO 554 a 1976).

Absorción percutánea *in vitro* (células de difusión de Franz). Para estos estudios se utilizó piel porcina de la parte posterior sin hervir de cerdos blancos Landrace con un peso de 30-40 kg. La piel porcina fue proporcionada por el Hospital Clínic de Barcelona, España. Después de la escisión, la piel fue dermatomizada a un espesor de aproximadamente 500 ± 50 µm con un dermatomo GA630 (Aesculap, Alemania). Se prepararon discos de piel de un diámetro interno 2,5 cm que encajan en las celdas de difusión estática tipo Franz.

Los estudios de absorción en la piel se realizaron con la aplicación de 10µl de Lip o MM (alrededor de 70 µg/cm² GA) o mediante la aplicación de los tejidos tratados con los mismos Lip o MM (que contienen aproximadamente 150-250 µg/cm² GA) sobre la superficie de la piel. Entre el tejido y la piel, se añadieron 20µl de agua destilada para asegurar el contacto directo. Se utilizó un disco de piel control (sin aplicación del producto sobre la superficie) para descartar posibles interferencias en el análisis de GA por HPLC-UV. De acuerdo con la metodología utilizada

por la OCDE [13], se realizaron los estudios de penetración en la piel durante 24 horas de contacto entre tejido y piel. A fin de aumentar la presión de este contacto se colocó un cilindro de acero inoxidable sobre el sustrato tejido-piel a una presión constante de acuerdo con condiciones estándar (125 g/cm2) (ISO 105- E04, 1996)).

Después del tiempo de exposición, se recoge el fluido receptor se enrasa a 5 ml en un matraz aforado. En el caso de formulaciones, la superficie de la piel se lava con una solución específica (500µl SLES (Lauril éter sulfato de sodio) (0,5%) y dos veces con 500µl agua destilada) y se seca con palitos de algodón. En el caso de los textiles, los tejidos fueron retirados de la superficie de la piel y se recogen junto con la parte superior de la celda. En ambos casos, una vez eliminado el exceso de GA de la superficie de la piel, el estrato córneo de la piel se extrae mediante cintas adhesivas (D-Squame, Cuderm Corporación, Dallas, TX, EE.UU.) aplicadas a presión controlada (80 g/cm² durante 5 seg). La epidermis se separa de la dermis después de calentar la piel a 80°C durante cinco segundos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se aplicaron los Lip o las MM preparados con GA a los tejidos como se describe en la sección de experimental. En la Taula 1 se muestran los porcentajes de producto en seco aplicado calculados por diferencia de peso entre tejido seco inicial y tejido seco después del proceso de agotamiento, así como los porcentajes de producto seco restante sobre la PA o CO después del proceso de desorción (lavado con agua).

Con los tejidos tratados con MM se obtuvo una absorción superior a la de los tejidos tratados con Lip. A pesar de esta alta absorción, la desorción fue también muy alta en comparación con el tratamiento con Lip en ambos textiles. Esta alta absorción de MM podría ser debido a la presencia de tensioactivo (Oramix CG) al 30% que se desorbe fácilmente en los lavados. En cuanto a los textiles, es importante remarcar que la PA absorbe mucho más MM y Lip que el CO.

Tabla 1. Percentage de formulación que resta sobre los tejidos de PA o CO después del tratamiento, después del primer lavado con 10ml de agua, y después de todos los lavados con agua (%spf: % sobre peso de fibra).

Tejido	Tratamiento	Tratamiento (% spf)	Después lavado 10ml (% spf)	Después lavado total (% spf)
PA	Micelas Mix.	40.14±4.23	18.29±1.98	3.91±0.11
PA	Liposomas	16.34±1.23	12.73±1.94	7.31±0.64
CO	Micelas Mix.	35.43±2.73	12.72±0.44	2.42±0.06
CO	Liposomas	10.99±0.39	7.32±2.43	5.58±0.39

El tamaño de partícula se determinó para dilucidar el tamaño del vehículo y sus cambios con la elución en baños de lavado. Como se podría esperar, en el baño inicial de MM, se encontraron partículas de alrededor de 7 nm y en el baño inicial de Lip se detectaron partículas mucho más grandes de aproximadamente 500 nm. La elución producida por el primer baño de lavado con agua no tiene mucho efecto con el tamaño de los Lip, se mantiene a alrededor de 500 nm; sin embargo, se encontró un gran aumento de tamaño, de 7 a 200 nm para las MM que indica la formación de liposomas debido a la diálisis del tensioactivo. Este incremento en el tamaño no ayudó a permanecer la formulación sobre el tejido; por el contrario, favoreció su desorción, como se puede apreciar con los resultados de MM que se muestran en la Tabla 1. Esta elevada desorción podría ser debida a una alta permeabilidad de los tejidos durante el proceso de lavado. De hecho, la desorción de alrededor del 90% se determinó cuando se utilizaron las MM frente al 50% de desorción detectado en los tejidos tratados con Lip.

Para conocer la penetración de un principio activo en la piel, se ha diseñado una metodología *in vitro* específica de absorción percutánea para demostrar la liberación de un principio encapsulado desde el textil a las diferentes capas de la piel (estrato córneo, epidermis o dermis). Se evaluó la absorción percutánea de las dos formulaciones aplicadas directamente (Lip y MM), y de los textiles PA y CO impregnados de Lip o MM (Figura 1).

El GA se extrae de las diferentes muestras (exceso en la superficie, CO/PA o capas de piel) utilizando metanol:agua (50:50), 30 min en baño de ultrasonidos a temperatura ambiente. El fluido receptor se analiza directamente. Todas las soluciones que contienen GA se cuantifican mediante HPLC-UV después de la filtración con filtro Millex (0,22 µm, Millipore, Bedford, MA, EE.UU.

Detección analítica de ácido gálico. El GA extraído de las diferentes muestras se cuantificó mediante un HPLC equipado con un detector UV-Vis como se ha descrito anteriormente [12]. La columna utilizada fue una LiChroCART 125-4 / Lichrosorb RP-18 (5 micras) (Darmstadt, Alemania). La fase móvil fue 80% de agua/ 80% de metanol a un de caudal 1 ml/min. El tiempo de retención fue de aproximadamente 3,3 min. El área por debajo del pico se utilizó para calcular la concentración de GA utilizando estándares externos que mostraron linealidad en el intervalo de concentración de 0,25 a 100 mg/ml.

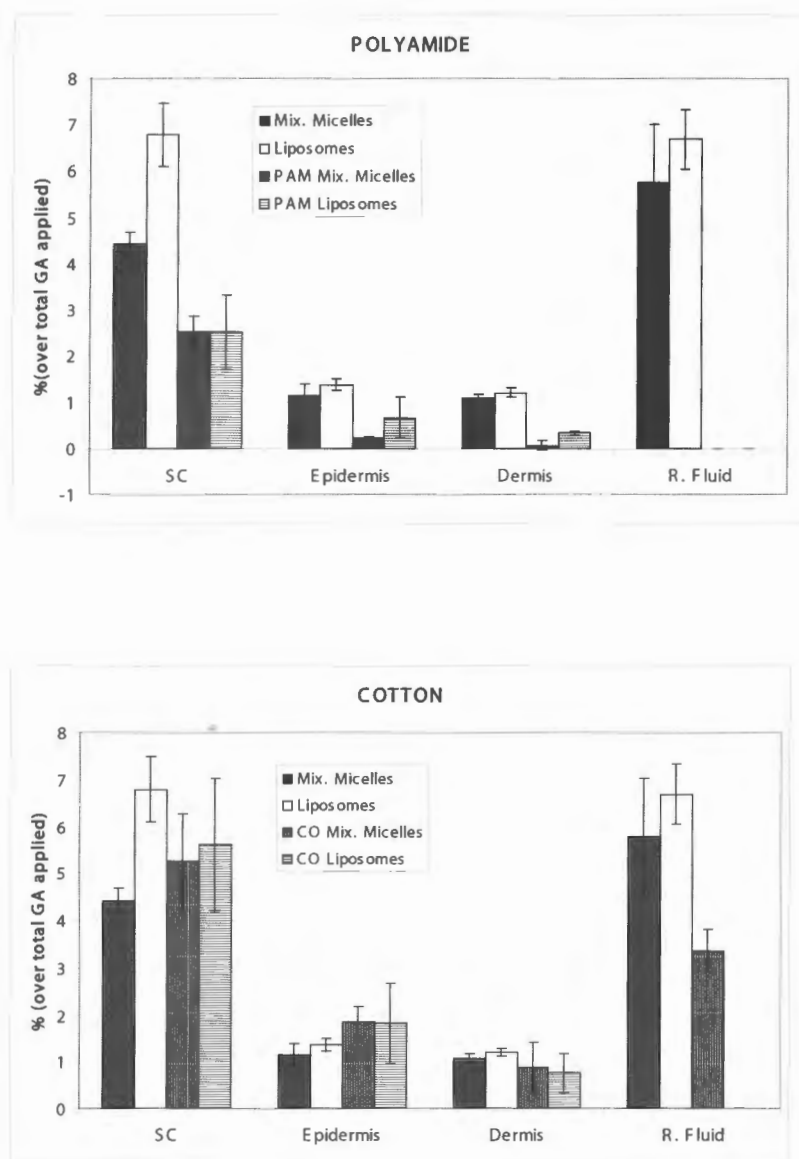


Figura 1. Absorción percutánea *in vitro* de Ácido Gálico (GA) desde las micelas mixtas, los liposomas y desde sus tejidos biofuncionales (PA y CO). (SC: stratum corneum, E: epidermis, D: dermis, R. Fluid: fluido receptor)

Como se observa en la Figura 1, la absorción de GA formulado como Lip fue mayor que cuando se formuló como MM. Esto podría ser debido a la estructura de bicapa de los Lip, similar a las estructuras de bicapas lipídicas presentes en el SC y en las membranas celulares de la piel. Para los tejidos tratados con GA en MM o en Lip la absorción fue similar en los diferentes compartimentos de la piel, SC, epidermis e incluso en la dermis. Posiblemente, los mismos tejidos con diferentes vehículos hacen un efecto reservorio similar. Sin embargo, se obtuvieron diferencias en el líquido receptor para los tejidos con vehículos diferentes, mientras que los tratados con Lip no permitían la

liberación GA en el líquido receptor tanto en el caso de CO como PA, se detectó un 3,36% de GA en el líquido receptor para el tejido de CO tratado con MM. La comparación entre los dos tipos de tejidos indica una mayor absorción percutánea en el caso de CO. Se detectó más GA en todas las capas de la piel cuando se aplicaron tópicamente como tejido biofuncional de CO. Al igual que en el proceso de lavado (de desorción), parece que la PA tiene más afinidad por el GA vehiculizado en MM o en Lip que el CO; por lo tanto, parece que hay un efecto reservorio más elevado para la PA y, como consecuencia, una absorción percutánea menor.

CONCLUSIONES

Se determinó previamente la cantidad precisa de principio activo presente en un cosmeo-textil antes de su uso como un sistema de administración de fármacos textil. Se vio que las MM permiten una mayor absorción que los Lip. Sin embargo, también permitieron una desorción mucho mayor de MM desde el tejido lavado, que conduce a una menor cantidad de material absorbido en el tejido después del lavado, en comparación con los tejidos tratados con Lip. Se encontró un aumento en el tamaño de partícula de 7 a 200 nm para el caso de MM que indica la formación de liposomas debido a la diálisis del tensioactivo. Sin embargo, este incremento en el tamaño no ayuda a que el GA permanezca en el tejido después de los lavados; por el contrario, favorece su desorción.

Los resultados de absorción percutánea de las formulaciones de GA en los dos vehículos (MM o LIP) aplicados directamente sobre la piel, permitieron observar una penetración en la piel de GA más elevada para los Lip que para las MM. Cuando GA se aplicó en los cosmeo-textiles, siempre se detectó un efecto reservorio más marcado en el caso de tejidos de PA. Se obtuvo un perfil de absorción similar para los tejidos tratados con GA en MM o en Lip en los diferentes compartimentos de la piel. Sólo cuando el CO se preparó con MM, se detectó GA en el líquido receptor. Esta metodología puede ser útil para verificar la absorción en la piel humana de las sustancias encapsuladas aplicadas sobre materiales textiles que pueden ser considerados como sistemas de administración estratégicos para liberar un principio activo que se quiera administrar en dosis específicas a la piel.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero al Proyecto Nacional (Ministerio de Educación y Ciencia) CTQ-PPQ2009-13967-C03-01. Así como al Servicio de Absorción de la piel (SAS-IQAC) para permitir el uso de su laboratorio.

REFERENCIAS

1. Wachter, R., Weuthen, M., Panzer, C., Paff, E.: Liposomes are used as textile finishes which not only improve elasticity and hand but can also be transferred to skin contact (2005) Patent n° EP1510619-A2, DE10339358-A1, US2005058700-A1.
2. Guarducci, M. Product having particular functional properties for the skin and process for the preparation thereof (2006) Patent n° WO/2006/106546.
3. Holme, I. Innovative technologies for high performance textiles. *Color. Technol.* 123 (2007) 59-73.
4. Cognis 2005, Cognis at ISPO 2005. Intelligent technologies for functional textiles (www.cognis.com).
5. Almeida, L. Functionalization of textiles-future perspectives. *Congrès Int. de la Recherche Appliquée aux textiles*, (2006).
6. Honeywell-Nguyen, P.L., de Graaff, A.M., Groenink, H.W.W., Bouwstra, J.A. The in vivo and in vitro interactions of elastic and rigid vesicles with human skin. *Biochim. Biophys. Acta* 1573 (2002) 130-140.
7. Tóutou, E., Dayan, N., Bergelson, L., Godin, B., Eliaz, M. Ethosomes-novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. *J. Control Release* 65 (2000) 403-418.
8. Ollivon, M., Lesieur, S., Grabielle-Madelmont, C., Paternostre, M. Vesicle reconstitution from lipid-detergent mixed micelles *Biochimica et Biophysica Acta* 1508 (2000) 34-50.
9. Kragh-Hansen, U., le Maire M., Møller J.V. The mechanism of detergent solubilization of liposomes and protein-containing membranes *Biophysical Journal*, 75 (1998) 2932-2946.
10. Yilmaz, Y., Toledo, R.T. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *J. of Agricultural and Food Chemistry* 52 (2004) 255-260.
11. Martí, M., Martínez, V., Rubio, L., Coderch, L. and Parra, J.L. Biofunctional textiles prepared with liposomes: in vivo and in vitro assessment. *J. of Microencapsulation* 28 (2011) 799-806.
12. Ramón, E., Alonso, C., Coderch, L., de la Maza, A., López, O., Notario, J., Parra, J.L. Liposomes as alternative vehicles for sun filter formulations *Drug Delivery* 12 (2005) 83-88.
13. OECD, Skin Absorption: In Vitro Method, Guideline 428, Guidelines for the Testing of Chemicals, Paris, France, (2004).